

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-114359

(P2005-114359A)

(43) 公開日 平成17年4月28日 (2005. 4. 28)

(51) Int. Cl. ⁷

G01N 27/327

C12M 1/34

C12Q 1/26

C12Q 1/32

G01N 27/416

F1

G01N 27/30

C12M 1/34

C12Q 1/26

C12Q 1/32

G01N 33/483

353Z

E

F

テーマコード (参考)

2G045

4B029

4B063

審査請求 未請求 請求項の数 20 O L (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願2003-344761 (P2003-344761)

(22) 出願日

平成15年10月2日 (2003. 10. 2)

(71) 出願人 000005821

松下電器産業株式会社

大阪府門真市大字門真1006番地

(74) 代理人 110000040

特許業務法人池内・佐藤アンドパートナーズ

(72) 発明者 新野 鉄平

愛媛県温泉郡川内町南方2131番地1

松下寿電子工業株式会社内

(72) 発明者 池田 信

愛媛県温泉郡川内町南方2131番地1

松下寿電子工業株式会社内

Fターム (参考) 2G045 AA06 BB29 CA25 DA01 DA31

DA53 DA69 FB01 FB05

4B029 AA07 BB16 CC03 FA12

最終頁に続く

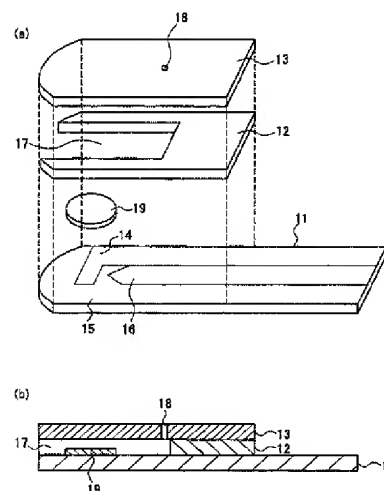
(54) 【発明の名称】 血液中のグルコースの測定方法およびそれに用いるセンサ

(57) 【要約】

【課題】 ヘマトクリットによる影響を簡単に補正できる血液成分分析用センサを提供する。

【解決手段】 作用電極14、対電極15および試薬部19を含む分析部を有し、前記試薬部19が、血液成分の酸化還元酵素およびメディエータを有し、前記メディエータの存在下、血液成分を前記酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を前記両電極14、15で検出する血液成分測定用センサにおいて、前記試薬部19に、さらに赤血球を溶血するための溶血剤（例えば、コール酸ナトリウム）を含有させ、前記酸化還元電流の測定の際に、前記溶血剤により赤血球を溶血させ、赤血球外部に流出したヘモグロビンと前記メディエータとを反応させ、この反応により生じる電流も併せて検出することにより、ヘマトクリットによる影響を補正する。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】**【請求項1】**

メディエータの存在下、血液成分を酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を電極で検出し、前記電流値を前記成分量に換算する血液成分の測定方法であって、前記酸化還元電流の検出の際に、赤血球を溶血させ、赤血球外部に流出したヘモグロビンと前記メディエータとを反応させ、この反応により生じる電流も併せて検出することにより、ヘマトクリットによる影響を補正して前記血液成分を測定することを特徴とする方法。

【請求項2】

前記溶血が、膜タンパク質可溶化剤により実施される請求項1記載の方法。

【請求項3】

前記膜タンパク質可溶化剤が、コール酸系界面活性剤である請求項2記載の方法。

【請求項4】

前記コール酸系界面活性剤が、コール酸、コール酸ナトリウム、コール酸メチルエステル、ケノデオキシコール酸、ケノデオキシコール酸ナトリウム、ジフェニルグリコール酸（ベンジル酸）、デオキシコール酸、デオキシコール酸ナトリウム、グリコケノデオキシコール酸ナトリウム、グリココール酸、グリココール酸ナトリウム、グリコデオキシコール酸、グリコデオキシコール酸ナトリウム、グリコール酸、グリコール酸ナトリウム、グリコリトコール酸ナトリウム、リトコール酸、チオグリコール酸ナトリウム、タウロコール酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウム、タウロウルソデオキシコール酸ナトリウム、ウルソデオキシコール酸ナトリウムおよびウルソデオキシコール酸からなる群から選択される少なくとも一つである請求項3記載の方法。

【請求項5】

前記膜タンパク質可溶化剤の量が、1回の測定当り、0.01mM～100mMの範囲である請求項2から4のいずれかに記載の方法。

【請求項6】

前記メディエータが、フェリシアン化カリウムである請求項1から5のいずれかに記載の方法。

【請求項7】

測定対象の血液成分が、グルコース、乳酸、尿酸、ビリルビンおよびコレステロールからなる群から選択される少なくとも一つである請求項1から6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

測定対象の血液成分がグルコースであり、前記酸化還元酵素が、グルコースオキシダーゼおよびグルコースデヒドロゲナーゼの少なくとも一方である請求項1から6のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

作用電極、対電極および試薬部を含む分析部を有し、前記試薬部が、血液成分の酸化還元酵素およびメディエータを有し、前記メディエータの存在下、血液成分を前記酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を前記両電極で検出する血液成分測定用センサであって、前記試薬部は、さらに赤血球を溶血するための溶血剤を有し、前記酸化還元電流の測定の際に、前記溶血剤により赤血球を溶血させ、赤血球外部に流出したヘモグロビンと前記メディエータとを反応させ、この反応により生じる電流も併せて検出することにより、ヘマトクリットによる影響を補正することを特徴とするセンサ。

【請求項10】

前記溶血剤が、膜タンパク質可溶化剤である請求項9記載のセンサ。

【請求項11】

前記膜タンパク質可溶化剤が、コール酸系界面活性剤である請求項10記載のセンサ。

【請求項12】

前記コール酸系界面活性剤が、コール酸、コール酸ナトリウム、コール酸メチルエステル

、ケノデオキシコール酸、ケノデオキシコール酸ナトリウム、ジフェニルグリコール酸（ベンジル酸）、デオキシコール酸、デオキシコール酸ナトリウム、グリコケノデオキシコール酸ナトリウム、グリココール酸、グリココール酸ナトリウム、グリコデオキシコール酸、グリコデオキシコール酸ナトリウム、グリコール酸、グリコール酸ナトリウム、グリコリトコール酸ナトリウム、リトコール酸、チオグリコール酸ナトリウム、タウロコール酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウム、タウロウルソデオキシコール酸ナトリウム、ウルソデオキシコール酸ナトリウムおよびウルソデオキシコール酸からなる群から選択される少なくとも一つである請求項11記載のセンサ。

【請求項13】

前記膜タンパク質可溶化剤の量が、1センサ当たり、0.01mM～100mMの範囲である請求項9から11のいずれかに記載のセンサ。

【請求項14】

前記メディエータが、フェリシアン化カリウムである請求項9から13のいずれかに記載のセンサ。

【請求項15】

測定対象の血液成分が、グルコース、乳酸、尿酸、ビリルビンおよびコレステロールからなる群から選択される少なくとも一つである請求項9から14のいずれかに記載のセンサ。

【請求項16】

測定対象の血液成分がグルコースであり、前記酸化還元酵素が、グルコースオキシダーゼおよびグルコースデヒドロゲナーゼの少なくとも一方である請求項9から14のいずれかに記載のセンサ。

【請求項17】

試薬部が、さらに、親水性高分子、酵素安定化剤および結晶均質化剤を含む請求項9から16のいずれかに記載のセンサ。

【請求項18】

さらに、絶縁基板を有し、この上に前記作用電極および前記対電極が配置され、この部分が分析部となり、前記分析部には、さらに前記試薬部が配置され、前記分析部には、ここに血液を導入するための流路の一端が連通しており、前記流路の他端は、外部に向かって開口しており、この開口部が血液供給口となっている請求項9から17のいずれかに記載のセンサ。

【請求項19】

さらに、スペーサーおよびカバーを有し、前記絶縁基板の上に、前記スペーサーを介して前記カバーが配置されている請求項18記載のセンサ。

【請求項20】

さらに、検出電極を有し、この検出電極は、前記血液供給口から前記分析部よりも後方に位置し、この検出電極により、前記分析部に血液が導入されたことを検出する請求項9から19のいずれかに記載のセンサ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、血液中のグルコースの測定方法およびそれに用いるセンサに関する。

【背景技術】

【0002】

臨床検査や糖尿病患者の血糖値自己測定等において、血液成分分析用センサが従来から使用されている。血液成分測定用センサは、例えば、その表面に作用電極および対電極が形成された絶縁基板の上に、スペーサーを介してカバーが配置されている構成である。前記作用電極および対電極の上には、酸化還元酵素およびメディエータ（電子伝達体）等を含む試薬が配置されており、この部分が分析部となる。この分析部には、血液を導入するための流路の一端が連通しており、前記流路の他端は外部に向かって開口しており、ここが血液供給口となる。このようなセンサを用いた血液成分の分析（例えば、血糖値）は、

例えば、次のようにして行われる。すなわち、まず、前記センサを専用の測定装置（メータ）にセットする。そして、指先等をランセットで傷つけて出血させ、これに前記センサの血液供給口を接触させる。血液は、毛細管現象によりセンサの流路に吸い込まれ、これを通して分析部に導入され、ここで、前記試薬と接触する。そして、血液中の成分と、酸化還元酵素が反応して酸化還元反応が起こり、これによりメディエータを介して電流が流れる。この電流を作用電極および対電極で検出し、前記測定装置で血液成分量に換算して表示する。

【0003】

上記のようにして、センサを用いて血液成分を測定することができるが、その測定値は、ヘマトクリット（Hct）の影響を受ける場合があるので、正しい測定値を得るためには、この影響を排除する必要がある。Hctの影響を排除する方法としては、まず、Hctが既知の試料を用いて作成した補正テーブルを予め準備し、これを用いて測定値を補正する方法がある（例えば、特許文献1参照）。この他に、予め設定したパラメータによりHctを補正する方法もある（例えば、特許文献2参照）。しかし、これらの方法では、補正テーブルを予め準備したり、パラメータによる複雑な演算をする必要があるなど、煩雑な補正工程を要する。

【特許文献1】特開平11-194108号公報

【特許文献2】WO02/44705公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明は、このような事情に鑑みなされたもので、複雑な補正工程を必要としない血液成分の測定方法およびセンサを提供することを、その目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0005】

前記目的を達成するために、本発明の血液成分の測定方法は、メディエータの存在下、血液成分を酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を電極で検出し、前記電流値を前記成分量に換算する血液成分の測定方法であって、前記酸化還元電流の測定の際に、赤血球を溶血させ、赤血球外部に流出したヘモグロビンと前記メディエータとを反応させ、この反応により生じる電流も併せて検出することにより、ヘマトクリットによる影響を補正して前記血液成分を測定することを特徴とする。

【0006】

また、本発明の血液成分測定用センサは、作用電極、対電極および試薬部を含む分析部を有し、前記試薬部が、血液成分の酸化還元酵素およびメディエータを有し、前記メディエータの存在下、血液成分を前記酸化還元酵素で酸化還元し、その際に生じる酸化還元電流を前記両電極で検出する血液成分測定用センサであって、前記試薬部は、さらに赤血球を溶血するための溶血剤を有し、前記酸化還元電流の測定の際に、前記溶血剤により赤血球を溶血させ、赤血球外部に流出したヘモグロビンと前記メディエータとを反応させ、この反応により生じる電流も併せて検出することにより、ヘマトクリットによる影響を補正することを特徴とする。

【発明の効果】

【0007】

Hct値が大きいということは、ヘモグロビン量も多いということであり、赤血球を溶血させ、流出したヘモグロビンとメディエータとを反応させた場合、この反応による電流も大きくなる。したがって、この電流を併せて検出することにより、Hctの影響で、血液成分の酸化還元による電流が小さくなくても、電極で検出される電流は、Hctによる影響を補正した値となる。したがって、本発明は、Hctの値に応じて変化するヘモグロビンを電気化学的に検出することにより、1回の電流の検出だけで自動的にHctの影響を補正することができ、複雑な補正工程を必要としない。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

つぎに、本発明を詳しく説明する。

【0009】

本発明の測定方法において、前記溶血は、膜タンパク質可溶化剤により実施されることが好ましいが、本発明は、これに制限されず、この他に、例えば、超音波などの物理的手段で溶血してもよい。

【0010】

本発明の測定方法およびセンサにおいて、前記膜タンパク質可溶化剤は、特に制限されず、例えば、界面活性剤が使用できる。前記界面活性剤としては、コール酸系界面活性剤が好ましい。前記コール酸系界面活性剤としては、例えば、コール酸、コール酸ナトリウム、コール酸メチルエステル、ケノデオキシコール酸、ケノデオキシコール酸ナトリウム、ジフェニルグリコール酸（ベンジル酸）、デオキシコール酸、デオキシコール酸ナトリウム、グリコケノデオキシコール酸ナトリウム、グリココール酸、グリココール酸ナトリウム、グリコデオキシコール酸、グリコデオキシコール酸ナトリウム、グリコール酸、グリコール酸ナトリウム、グリコリトコール酸ナトリウム、リトコール酸、チオグリコール酸ナトリウム、タウロコール酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウム、タウロウルソデオキシコール酸ナトリウム、ウルソデオキシコール酸ナトリウム、ウルソデオキシコール酸等があげられる。これらは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。前記コール酸系界面活性剤のなかで、コール酸ナトリウム、デオキシコール酸ナトリウム、グリココール酸ナトリウム、グリコデオキシコール酸ナトリウム、タウロコール酸ナトリウム、およびタウロデオキシコール酸ナトリウムが好ましく、コール酸ナトリウム、グリココール酸ナトリウム、タウロコール酸ナトリウム、タウロデオキシコール酸ナトリウムが特に好ましい。その他の膜タンパク質可溶化剤としては、例えば、

ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)、
N,N-ビス(3-D-グルコンアミドプロピル)コールアミド (BIGCHAP)、
3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパンスルホネート (CHAPS)、

N,N-ビス(3-D-グルコンアミドプロピル)デオキシコールアミド (deoxy-BIGCHAP)、
3-[(3-コールアミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホネート (CHAPSO)、

n-デカノイル-N-メチルグルカミド (MEGA - 10)、

n-ノナノイル-N-メチルグルカミド (MEGA - 9)、

n-オクタノイル-N-メチルグルカミド (MEGA - 8)、

n-オクチル-β-D-チオグルコシド、

n-オクチル-β-D-マルトシド、

n-オクチル-β-D-グルコシド、

スクロースモノラウレート (SM1200)、

スクロースモノカブレート (SM1000)および

スクロースモノコレート等

があげられる。

【0011】

本発明の測定方法およびセンサにおいて、前記膜タンパク質可溶化剤の配合量は、特に制限されないが、1回の測定当たり若しくはセンサ1個当たり、例えば、0.01mM~100mMの範囲であり、0.1mM~50mMの範囲が好ましく、特に好ましくは、0.2mM~2.0mMの範囲である。

【0012】

本発明の測定方法およびセンサにおいて、前記メディエータは、特に制限されず、例えば、フェリシアン化カリウム、p-ベンゾキノン、p-ベンゾキノン誘導体、フェナジメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン、フェロセン誘導体があげられ、このなかで、フェリシアン化カリウムが好ましい。前記メディエータの配合量は、特に制限され

ず、センサ1個当り、若しくは1回の測定当り、例えば、0.1～1000mMであり、好ましくは1～500mMであり、より好ましくは、5～200mMである。

【0013】

本発明の測定方法およびセンサにおいて、その測定方法は、血液成分であれば特に制限されないが、例えば、グルコース、乳酸、尿酸、ビリルビン、コレステロール等があげられ、前記酸化還元酵素は、測定対象の血液成分の酸化還元酵素である。前記酸化還元酵素としては、例えば、グルコースオキシダーゼ、ラクテートオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、ラクテートデヒドロゲナーゼなどがある。前記酸化還元酵素の量は、例えば、センサ1個当り、若しくは1回の測定当り、例えば、0.1～100Uであり、好ましくは、0.5～50Uであり、より好ましくは、1～10Uである。

【0014】

本発明のセンサにおいて、前記試薬部は、さらに、親水性高分子、酵素安定化剤および結晶均質化剤を含むことが好ましい。

【0015】

前記親水性高分子は、試薬液を乾燥させて試薬を作製する際に、前記試薬液に粘性を付与して電極上への試薬部の形成を容易に均質にするとともに、電極と試薬部との密着性を高め、さらに乾燥後の試薬部の結晶状態を良好なものとする。前記親水性高分子としては、例えば、カルボキシメチルセルロース(CMC)、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリジン等のポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチンおよびその誘導体、ポリアクリル酸およびその塩、ポリメタクリル酸およびその塩、スターチおよびその誘導体、無水マレイン酸重合体およびその塩、アガロースゲルおよびその誘導体などがあげらる。これらは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。この中で、好ましいのは、CMCである。前記親水性高分子の割合は、試薬部を作製するための試薬液全体に対し、例えば、0.001～5重量%であり、好ましくは、0.005～2.5重量%であり、より好ましくは0.01～1.0重量%である。

【0016】

前記酵素安定化剤としては、例えば、糖アルコールがあげられる。前記糖アルコールとしては、例えば、ソルビトール、マルチトール、キシリトール、マンニトール、ラクチトール、還元バラチノース、アラビニトール、グリセロール、リビトール、ガラクトール、セドヘプチトール、ペルセイトール、ボレミトール、スチラシトール、ポリガリトール、イジトール、タリトール、アリトール、イシリトール、還元澱粉糖化物、イシリトールなどの鎖状の多価アルコールや環式糖アルコールがあげられる。また、これらの糖アルコールの立体異性体、置換体または誘導体であってもよい。これらの糖アルコールは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。これらの中で、好ましいのは、マルチトールである。前記酵素安定化剤の配合量は、1回の測定当り若しくは1センサ当り、例えば、0.01～500mMの範囲であり、好ましくは、0.05～100mMの範囲であり、より好ましくは0.1～50mMの範囲である。

【0017】

前記結晶均質化剤は、試薬部の結晶状態を均質にするためのものであり、例えば、アミノ酸があげられる。前記アミノ酸としては、例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、トレオニン、メチオニン、アスパラギン、グルタミン、アルギニン、リシン、ヒスチジン、フェニルアラニン、トリプトファン、プロリン、サルコシン、ベタイン、タウリン、これらの塩、置換体および誘導体があげられる。これらは、単独で使用してもよいし、2種類以上で併用してもよい。これらの中で、グリシン、セリン、プロリン、トレオニン、リシン、タウリンが好ましく、より好ましくは、タウリンである。前記結晶均質化剤の配合量は、1回の測定当り若しくは1センサ当り、例えば、0.1～1000mMであり、好ましくは、5～500mMであり、より好ましくは10

～300mMである。

【0018】

つぎに、本発明のセンサは、例えば、絶縁基板の上に作用電極および対電極が配置され、この部分が分析部となり、前記分析部には、さらに試薬部が配置され、前記分析部には、ここに血液を導入するための流路の一端が連通しており、前記流路の他端は、外部に向かって開口しており、この開口部が血液供給口となっているという構成である。また、前記絶縁基板の上には、スペーサーを介してカバーが配置されている。さらに、検出電極を有し、この検出電極は、前記血液供給口から前記分析部よりも後方に位置し、この検出電極により、前記分析部に血液が導入されたことを検出することが好ましい。

【0019】

上記のような構成の本発明のセンサの一例を図1に示す。図1(a)は前記センサの分解斜視図であり、図1(b)は、前記センサの断面図である。図示のように、このセンサは、絶縁性基材11の上に作用電極14と対電極15が形成され、この上に試薬部19が配置され、この部分が分析部となっている。また、絶縁基板11には、検出電極16も形成されており、これは、血液導入口側から、作用電極14および前記対電極15よりも、後方に位置している。前記試薬部19には、グルコースオキシターゼ等の前記酸化還元酵素、前記メディエータ、コール酸等の溶血剤、前記親水性高分子、前記酵素安定化剤、前記結晶均質剤等が含まれている。これらの試薬の種類や配合割合は、前述のとおりである。前記絶縁基板11の上には、一方の端部(図において右側端部)を残してスペーサー12を介しカバー13が配置されている。前記分析部には、ここに血液を導入するための流路17が連通しており、この流路17は、センサの他方の端部(図において左側端部)まで延びており、前記流路17の他方の端部先端は外部に対し開口して、血液導入口となっている。前記作用電極14、対電極15および検出電極16は、それぞれリードと連結し、これらのリードは、前記一方の端部側に延びており、リードの先端はカバーに覆われずに露出している。前記カバー13の流路17の後方に対応する部分には、毛細管現象を強化するための空気抜孔18が形成されている。

【0020】

本発明において、前記絶縁基板の材質は特に制限されず、例えば、ポリエチレンテレフタレート(PET)、ポリカーボネート(PC)、ポリイミド(PI)、ポリエチレン(PE)、ポリプロピレン(PP)、ポリスチレン(PS)、ポリ塩化ビニル(PVC)、ポリオキシメチレン(POM)、モノマーキャストナイロン(MC)、ポリブチレンテレフタレート(PBT)、メタクリル樹脂(PMMA)、ABS樹脂(ABS)、ガラス等が使用でき、このなかで、ポリエチレンテレフタレート(PET)、ポリカーボネート(PC)、ポリイミド(PI)が好ましく、より好ましくは、ポリエチレンテレフタレート(PET)である。絶縁基板の大きさは、特に制限されず、例えば、全長5～100mm、幅3～50mm、厚み0.1～2mmであり、好ましくは、全長10～50mm、幅3～20mm、厚み0.2～1mmであり、より好ましくは、全長15～30mm、幅5～10mm、厚み0.3～0.6mmである。

【0021】

絶縁基板上の電極およびリードは、例えば、金、白金、パラジウム等を材料として、スパッタリング法あるいは蒸着法により導電層を形成し、これをレーザーにより特定の電極パターンに加工することで形成できる。レーザーとしては、例えば、YAGレーザー、CO₂レーザー、エキシマレーザー等が使用できる。

【0022】

前記試薬部は、例えば、所定の試薬を水若しくは緩衝液に溶解し、これを乾燥させることにより形成することができる。例えば、0.01～2.0wt%CMC水溶液に、PQQ-GDHを0.1～5.5U/センサ、フェリシアン化カリウムを10～200mM、マルチツールを0.05～30mM、タウリンを10～300mM、コール酸ナトリウム0.02～5.0mMを添加して溶解させる。そして、この溶液を、前記基板の分析部上(作用電極および対電極上)に滴下し、乾燥させることで試薬部が形成できる。前記乾燥

は、自然乾燥でも温風を用いた強制乾燥でもよいが、高温過ぎると酵素が失活するおそれがあるから、50℃前後の温風が好ましい。

【0023】

つぎに、本発明において、スペーサーの材質は、特に制限されず、例えば、絶縁基板と同様の材料が使用できる。また、スペーサーの大きさは、特に制限されず、例えば、全長5～100mm、幅3～50mm、厚み0.01～1mmであり、好ましくは、全長10～50mm、幅3～20mm、厚み0.05～0.5mmであり、より好ましくは、全長15～30mm、幅5～10mm、厚み0.05～0.25mmである。スペーサーには、血液導入のための流路となる切り欠き部が形成されているが、その大きさは、例えば、全長1～30mm、幅0.05～10mm、であり、好ましくは、全長2～10mm、幅0.3～5mmであり、より好ましくは、全長2～10mm、幅0.5～2mmである。この切り欠き部は、例えば、レーザーやドリル等で穿孔して形成してもよいし、スペーサーの形成時に、切り欠き部が形成できるような金型を使用して形成してもよい。

【0024】

つぎに、本発明において、カバーの材質は、特に制限されず、例えば、絶縁基板と同様の材料が使用できる。カバーの試料供給路の天井部に相当する部分は、親水性処理することが、更に好ましい。親水性処理としては、例えば、界面活性剤を塗布する方法、プラズマ処理などによりカバー表面に水酸基、カルボニル基、カルボキシル基などの親水性官能基を導入する方法がある。カバーの大きさは、特に制限されず、例えば、全長5～100mm、幅3～50mm、厚み0.01～0.5mmであり、好ましくは、全長10～50mm、幅3～20mm、厚み0.05～0.25mmであり、より好ましくは、全長15～30mm、幅5～10mm、厚み0.05～0.1mmである。カバーには、空気抜きが形成されていることが好ましく、その大きさは、例えば、最大直径0.01～10mm、好ましくは、最大直径0.05～5mm、より好ましくは、最大直径0.1～2mmである。この空気抜きは、例えば、レーザーやドリル等で穿孔して形成してもよいし、カバーの形成時に、空気抜き部が形成できるような金型を使用して形成してもよい。

【0025】

つぎに、このセンサは、絶縁基板、スペーサーおよびカバーをこの順序で積層し、一体化することにより製造できる。一体化には、前記3つの部材を接着剤で貼り付けたり、若しくは熱融着してもよい。前記接着剤としては、例えば、エポキシ系接着剤、アクリル系接着剤、ポリウレタン系接着剤、また熱硬化性接着剤（ホットメルト接着剤等）、UV硬化性接着剤等が使用できる。

【0026】

このセンサを用いた血糖値測定は、例えば、次のようにして実施される。すなわち、まず、専用のランセットで指先等を穿刺し、出血させる。一方、前記センサを専用の測定装置（メータ）にセットする。そして、出血した血液に、測定装置にセットしたセンサの血液導入口を接触させ、毛細管現象により、血液をセンサ内の分析部に導入する。ここで、血液中のグルコースと試薬中のグルコースオキシターゼ等の酸化還元酵素とが反応する。一方、血液の分析部への導入が検出電極により確認されてから一定時間経過後に、作用電極と対電極との間に一定電圧を印加すると酸化還元電流が流れる。この際、血液中の赤血球は、前記試薬部19中の溶血剤により溶血し、ヘモグロビンが外部に流出しており、流出したヘモグロビンは、前記メディエータと反応し、この反応により生じた電流も、前記電極で同時に検出される。検出された電流を前記測定装置で測定し、この値をグルコース濃度に換算して表示する。

【0027】

このセンサによる前記測定において、Hctの影響が自動的に補正される。その理由を図2に基づき説明する。図2の左上図のグラフに示すように、Hctが高くなるに従い血液中的ヘモグロビン量は増加する。よって、ヘモグロビン－メディエータ間の電子交換反応により生成する還元型メディエータの量も増加する。本来着目すべき、酵素反応で生成する還元型メディエータに加えて、上記反応においても還元型メディエータが生成するた

めに、これは最終的に得られる電流応答に対して正誤差を与える。一方、Hctの増加すなわち血球（固形）成分の増加は、電極活性種の電極反応過程（不均一電子移動反応、拡散等）に対して少なからず影響を与えることが知られており、最終的に得られる電流応答に対して負誤差も与える。一般的に、膜タンパク質可溶化剤を含まない系においては赤血球の可溶化が促進されないために、上記、負の効果が顕著に現れる。図2の右上図のグラフに示すように、Hctの増加に伴い電流応答が減少する傾向を示す。そこで、センサ系に膜タンパク質可溶化剤を添加し、正誤差を与える赤血球の可溶化を促進することで、正誤差／負誤差の相殺が可能となる。その結果、センサ応答に与えるHct値依存性を極力抑制した、より正確な血液成分の定量を実現することができる（図2の下図のグラフ）。

【0028】

なお、このセンサは、本発明のセンサの一例にすぎず、例えば、検出電極は無くても良い。

【実施例】

【0029】

つぎに、本発明の実施例について、比較例と併せて説明する。

【0030】

図1に示す構造のセンサを前述の方法に従い作製した。試薬部は、下記の組成の試薬溶液を調製し、1センサ当前記試薬溶液を分析部に滴下し、乾燥させることにより作製した。

（試薬部組成）

- ・ 酵素（PQQ-GDH）
- ・ メディエータ（フェリシアン化カリウム）
- ・ 親水性高分子（CMC）
- ・ 酵素安定化剤（マルチトール）
- ・ 結晶均質化剤（タウリン）
- ・ 膜タンパク質可溶化剤（コール酸ナトリウム；1.2mM）

一方、100mg/dLおよび400mg/dLの2種類のグルコース濃度について、Hctを25%、45%および65%に調整したヒト全血の試料6種類を作製した。

【0031】

前記センサを専用の測定装置（メータ）にセットし、前記センサの血液導入口に前記試料を接触させ、毛細管現象により前記試料を分析部にまで導入した。前記試料が検出電極で検出された時点で測定を開始し、3.5秒後に作用電極および対電極に+0.2Vの定電圧を印加し、その1.5秒後の電流値を測定した。測定回数nは各試料ごとにn=10であり、その平均値をグラフに示す。図3のグラフは、Hct値45%を基準とし、これから他のHct値における検出電流の乖離（%）を示すグラフである。

（比較例）

溶血剤を使用しなかった以外は、実施例1と同様にしてセンサにおいて電流を測定した。この結果を図4のグラフに示す。図4のグラフも、図3のグラフと同様に、Hct値45%を基準とし、これから他のHct値における検出電流の乖離（%）を示すグラフである。

【0032】

図3のグラフに示すように、実施例のセンサでは、Hct値は変化しても、測定された電流値はほぼ一定であった。これに対し、図4のグラフに示すように、比較例のセンサでは、Hct値の変化によって測定された電流値も大きく変化した。

【実施例】

【0033】

実施例1と同様の手順でセンサを作製した。試薬部は、実施例1と同様であるが、膜タンパク質可溶化剤であるコール酸ナトリウムを0.8mM、および1.8mM添加したもの、膜タンパク質可溶化剤を添加しない従来のセンサの3種類を作成した。

【0034】

測定は実施例1と同様の手順で行い、電流測定条件及び測定回数 n も実施例1と同様である。100mg/dLのグルコース濃度において、Hctを25%、45%および65%に調整したヒト全血試料3種類における測定結果を図5に示す。なお、グラフは、Hct値45%を基準とし、これから他のHct値における検出電流の乖離(%)を示すグラフである。

【0035】

図5からも明らかなように、試薬層に添加するコール酸ナトリウム濃度の増加と共に、Hct値の影響が徐々に軽減されていることがわかる。

【実施例】

【0036】

実施例1と同様の手順でセンサを作製した。試薬部は、実施例1と同様であるが、膜タンパク質可溶化剤としては下記のものをそれぞれ使用し、3種類のセンサを作成した。

(膜タンパク質可溶化剤)

- ・タウロコール酸ナトリウム(1.2mM)
- ・タウロデオキシコール酸ナトリウム(1.2mM)
- ・グリココール酸ナトリウム(1.2mM)

このようにして作製したセンサを用いて、100mg/dLおよび400mg/dLの2種類のグルコース濃度について、Hctを25%、45%および65%に調整したヒト全血の試料6種類を実施例1と同様の手順でそれぞれ測定を行った。膜タンパク質可溶化剤として、タウロコール酸ナトリウムを使用したものを図6に、タウロデオキシコール酸ナトリウムを使用したものを図7に、グリココール酸ナトリウムを使用したものを図8にそれぞれ示す。図6、図7および図8のグラフは、Hct値45%を基準とし、これから他のHct値における検出電流の乖離(%)を示すグラフである。なお、電流測手条件および測定回数 n も実施例1と同様である。

【0037】

図6、図7、図8および実施例1の比較例である図4からも明らかなように、いずれの膜タンパク質可溶化剤の添加においても、実施例1のコール酸ナトリウムと同様に、Hct値の影響を軽減する効果が確認された。

【0038】

なお、実施例1、2および3は血液中のグルコース濃度を測定するセンサについて示したが、測定対象および測定形式は、これに限定されるものではなく、例えば測定対象としては、乳酸、コレステロール、尿酸、ビリルビンなどにおいても可能である。また、電流測定方式として、図1で示した作用電極14、対電極15、検出電極16からなる3電極方式を用いたが、検出電極のない2電極方式などもあり、何れの方式を用いてもよい。なお、3電極方式の方が2電極方式より正確な測定が可能である。

【産業上の利用可能性】

【0039】

本発明の測定方法およびセンサは、Hct値の影響を自動的かつ簡単に補正することができる。したがって、本発明の測定方法およびセンサは、血液成分の測定に有用である。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】図1(a)は、本発明のセンサの一例を示す分解斜視図であり、図1(b)は、その断面図である。

【図2】図2は、本発明の原理を説明するための図である。

【図3】図3は、本発明の一実施例におけるHct値の変化による測定電流の変化を示すグラフである。

【図4】図4は、比較例におけるHct値の変化による測定電流の変化を示すグラフである。

【図5】図5は、本発明のその他の例におけるHct値の変化による測定電流の変化を示

すグラフである。

【図6】図6は、本発明のさらにその他の例において、試薬溶液中にタウロコール酸ナトリウムを添加した場合のHct値の変化による測定電流の変化を示すグラフである。

【図7】図7は、本発明のさらにその他の例において、試薬溶液中にタウロデオキシコール酸ナトリウムを添加した場合のHct値の変化による測定電流の変化を示すグラフである。

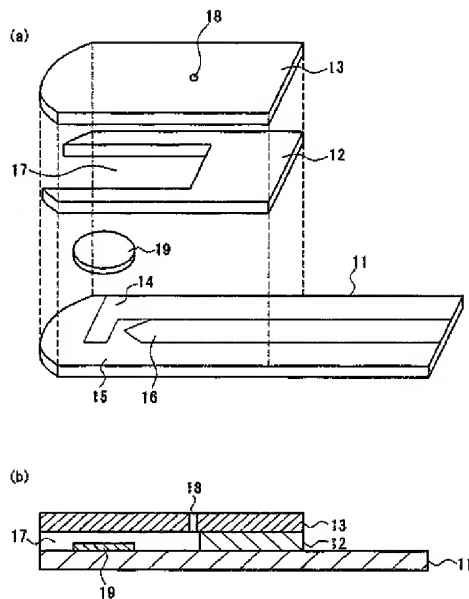
【図8】図8は、本発明のさらにその他の例において、試薬溶液中にグリココール酸ナトリウムを添加した場合のHct値の変化による測定電流の変化を示すグラフである。

【符号の説明】

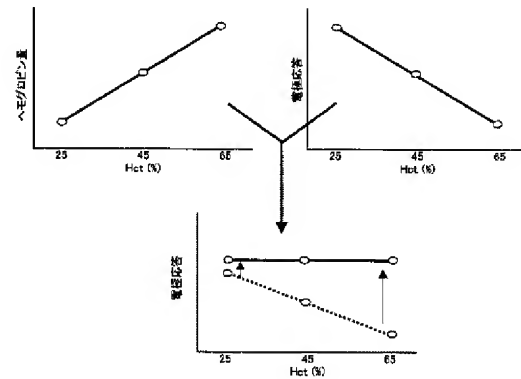
【0041】

- 1 1 絶縁基板
- 1 2 スペーサー
- 1 3 カバー
- 1 4 作用電極
- 1 5 対電極
- 1 6 検出電極
- 1 7 血液導入用の流路
- 1 8 空気抜孔
- 1 9 試薬部

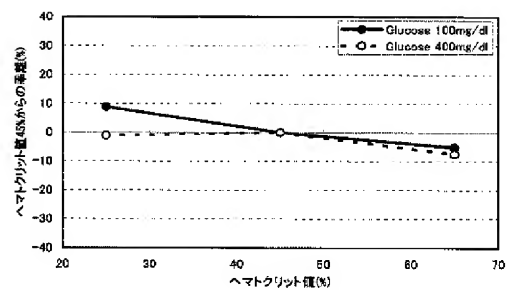
【図1】



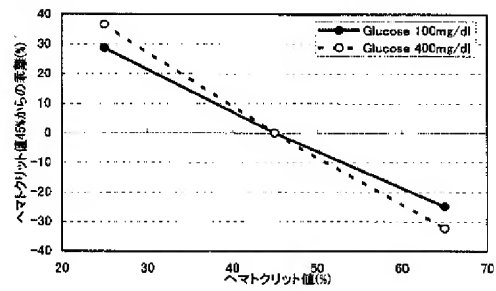
【図2】



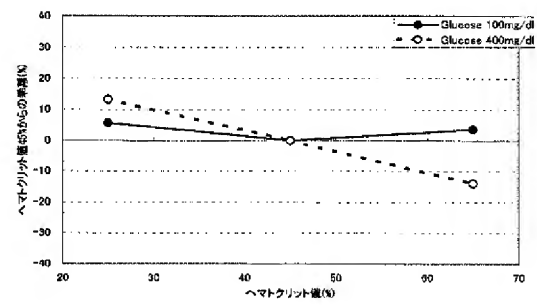
【図3】



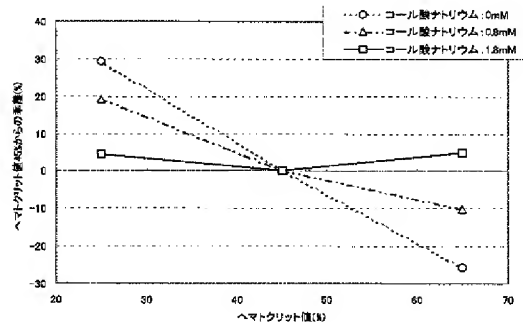
【図4】



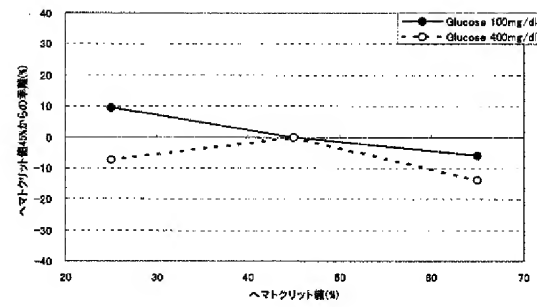
【図6】



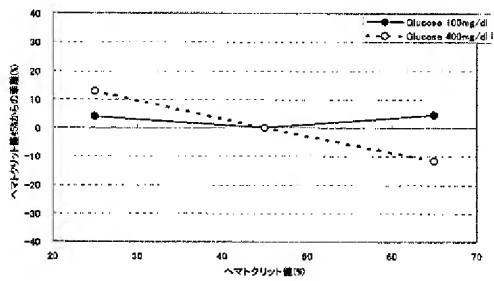
【図5】



【図7】



【図8】



(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
G O 1 N 33/483	G O 1 N 33/66	A
G O 1 N 33/66	G O 1 N 27/30	3 5 3 R
	G O 1 N 27/46	3 3 8
	G O 1 N 27/46	3 3 6 H
F ターム (参考) 4B063 QA01 QQ03 QQ62 QQ67 QQ76 QQ82 QR03 QR04 QR50 QR64		
	QR82 QS14 QS26 QS39 QX05	